

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-054370

(43)Date of publication of application : 27.02.1996

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

G01N 27/62

(21)Application number : 06-188556

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 10.08.1994

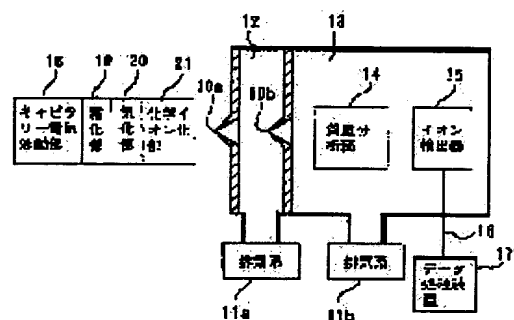
(72)Inventor : TAKADA YASUAKI
SAKAIRI MINORU
HIRABAYASHI TSUDOI
KOIZUMI HIDEAKI

(54) CAPILLARY ELECTROPHORESIS/MASS SPECTROMETER

(57)Abstract:

PURPOSE: To enlarge an application range of a capillary electrophoresis/mass spectrometer by making it possible to analyze a neutral sample without having electric charges in a solution and use various kinds of buffer solutions.

CONSTITUTION: A sample solution separated in a capillary electrophoresis part 18 is atomized at an atomizing part 19 and then heated and gasified at a gasifying part 20. The obtained gaseous sample molecules are ionized at a chemical ionizing part 21 equipped with a corona discharge part through a chemical reaction by adding protons or the like. The generated ions related to the sample molecules are introduced into a vacuum chamber from an ion introduction small hole 10a and analyzed at a mass-spectrometric part 14 and an ion detector 15.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 26.10.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3415682

[Date of registration] 04.04.2003

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-54370

(43) 公開日 平成8年(1996)2月27日

(51) Int.Cl.⁶

G 0 1 N 27/447
27/62

識別記号

庁内整理番号

B

F I

G 0 1 N 27/ 26

3 3 1 Z

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数17 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平6-188556

(22) 出願日 平成6年(1994)8月10日

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72) 発明者 高田 安章

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内

(72) 発明者 坂入 実

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内

(72) 発明者 平林 集

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地

株式会社日立製作所中央研究所内

(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔

最終頁に続く

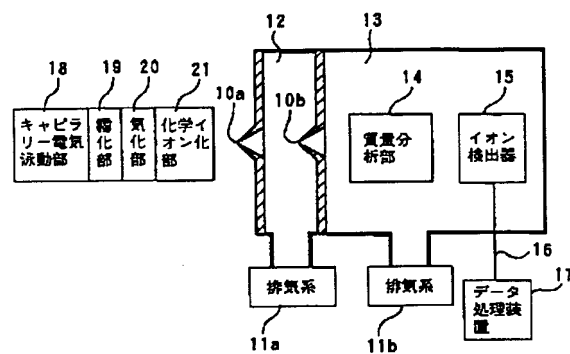
(54) 【発明の名称】 キャピラリー電気泳動・質量分析計

(57) 【要約】

【目的】 溶液中で電荷を持たない中性試料の分析、及び種々のバッファ液の使用を可能にして、キャピラリー電気泳動・質量分析計の適応範囲を拡大する。

【構成】 キャピラリー電気泳動部18で分離した試料溶液を霧化部19で霧化した後、気化部20で加熱気化し、得られたガス状の試料分子をコロナ放電部を備える化学イオン化部21で化学反応によりプロトン付加反応等によりイオン化する。こうして生成された試料分子に関するイオンをイオン導入細孔10aから真空室に導入し、質量分析部14及びイオン検出器15によって分析する。

【効果】 化学イオン化により試料をイオン化するので、溶液中で電荷を持たない試料も分析できる。また、イオン性の物質に対して感度が低いので塩を加えたバッファ液を使用できるようになる。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一端に試料を導入したキャピラリーの両端に電圧を印加することにより試料を分離するキャピラリー電気泳動部と、前記キャピラリー電気泳動部から分離して得られた試料を含む溶液を霧化するための噴霧手段と、前記噴霧手段により生成された液滴を加熱して気化させる気化手段と、前記気化手段により生成されたガス状の試料分子との化学反応によって試料分子に関するイオンを生成する化学イオン化手段と、前記化学イオン化手段によって生成されたイオンを導入するためのイオン導入細孔を備える真空排気室と、前記イオン導入細孔から導入されたイオンを質量分析するための質量分析部とを含むことを特徴とするキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項2】 一端に試料が導入されるキャピラリーと、前記キャピラリーの先端部が挿入され該キャピラリーの周囲に噴霧補助液を導入するための金属管と、前記キャピラリーの両端に泳動電圧を印加するための電源と、前記金属管の先端から噴霧補助液と混合された試料を霧化するための噴霧手段と、前記噴霧手段により噴霧された液滴を加熱して気化させる気化手段と、前記気化手段により生成されたガス状の試料分子との化学反応によって試料分子に関するイオンを生成する化学イオン化手段と、前記化学イオン化手段によって生成されたイオンを導入するためのイオン導入細孔を備える真空排気室と、前記真空排気室中に配置され前記イオン導入細孔から導入されたイオンを質量分析するための質量分析部とを含むことを特徴とするキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項3】 前記気化手段は前記噴霧手段により噴霧された液滴の流れを包囲する加熱された金属ブロックであることを特徴とする請求項1又は2記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項4】 前記気化手段は内部にガス流路を有する加熱された金属ブロックからなり、前記金属管の先端部は絶縁手段を介して前記金属ブロック内部のガス流路中に突出し、前記ガス流路を構成する前記金属ブロックの内壁の一部に前記噴霧手段により噴霧された液滴の流れが衝突するように配置されていることを特徴とする請求項2記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項5】 前記ガス流路を流れるガスは加熱されていることを特徴とする請求項4記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項6】 前記気化手段は、赤外線照射手段からなることを特徴とする請求項1～5のいずれか1項記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項7】 前記赤外線照射手段は、ヒーターと及び該ヒーターに液滴が当たるのを防ぐ遮蔽部を備えることを特徴とする請求項6記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

2

【請求項8】 前記化学イオン化手段は、コロナ放電を発生させるための針状電極を備えることを特徴とする請求項1～7のいずれか1項記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項9】 前記化学イオン化手段は、試料分子のプロトン付加イオンあるいはプロトン脱離イオンを生成することを特徴とする請求項8記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項10】 前記噴霧手段は静電噴霧手段であることを特徴とする請求項1～9のいずれか1項記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項11】 前記噴霧された試料を前記気化手段及び前記化学イオン化手段に搬送するための搬送ガス流発生手段を備えることを特徴とする請求項1～10のいずれか1項記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項12】 前記搬送ガスは加熱されていることを特徴とする請求項11記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項13】 一端に試料が導入されるキャピラリーと、前記キャピラリーの先端部が挿入され該キャピラリーの周囲に噴霧補助液を導入するための金属管と、前記キャピラリーの両端に泳動電圧を印加するための電源と、前記金属管の先端部から噴霧補助液と混合された試料を噴霧して霧化するための静電噴霧手段と、前記静電噴霧手段により噴霧された液滴の流れを包囲する金属ブロックを備え前記液滴を加熱して気化させるための気化手段と、コロナ放電を発生させるための針状電極を備え前記気化手段により生成されたガス状の試料分子との化学反応によって試料分子に関するイオンを生成する化学イオン化手段と、前記静電噴霧された試料を前記気化手段及び前記化学イオン化手段に搬送するための搬送ガス流発生手段と、前記化学イオン化手段によって生成されたイオンを導入するためのイオン導入細孔を備える真空排気室と、前記真空排気室中に配置され前記イオン導入細孔から導入されたイオンを質量分析するための質量分析部とを含むことを特徴とするキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項14】 前記金属管の先端部と前記針状電極との間に、粒径の大きな液滴が針状電極に飛翔し付着することを防ぐための遮蔽部を有することを特徴とする請求項13記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計

【請求項15】 前記遮蔽部は金属板又は金属メッシュからなることを特徴とする請求項14記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項16】 前記遮蔽部が加熱されていることを特徴とする請求項14又は15記載のキャピラリー電気泳動・質量分析計。

【請求項17】 試料溶液が導入される細管と、前記細管の先端部から試料溶液を噴霧させる噴霧手段と、前記噴霧手段によって噴霧された試料液滴を気化させる加熱

手段と、前記加熱手段により生成されたガス状の試料分子との化学反応によって試料分子に関するイオンを生成する化学イオン化手段と、前記化学イオン化手段によって生成されたイオンを導入するためのイオン導入細孔を備える真空排気室と、前記真空排気室中に配置され前記イオン導入細孔から導入されたイオンを質量分析するための質量分析部とを含むことを特徴とする分析計。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、例えば糖やペプチド、蛋白質等の生体関連の混合試料の分離分析に用いられる、キャピラリー電気泳動と質量分析計とを結合した装置、すなわちキャピラリー電気泳動・質量分析計に関する。

【0002】

【従来の技術】現在、分析の分野では、生体関連物質の質量分析法の開発が重要視されている。生体関連物質は通常混合物として溶液中に溶け込んでいるため、混合物を分離する手段と質量分析計とを結合する装置の開発が進められている。この方法の代表的な装置として、キャピラリー電気泳動・質量分析計がある。キャピラリー電気泳動は混合物の分離に優れるが物質の同定ができず、一方質量分析計は感度も高く物質の同定能力に優れるが混合物の分析は困難である。そこで、キャピラリー電気泳動の検出器として質量分析計を用いるキャピラリー電気泳動・質量分析計は、混合物の分析に対して大変有効である。

【0003】図13により、アナリティカル・ケミストリー、1988年、第60巻、1948頁〔Analytical Chemistry, 60, 1948(1988)〕に記載されている静電噴霧イオン化法を用いた従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計について説明する。キャピラリー1は、外径約数百マイクロメートル、内径約数十マイクロメートルのフューズドシリカ製毛細管である。キャピラリー1の内部は緩衝溶液が満たされており、このキャピラリー1の末端2aから試料溶液がキャピラリー1中に導入される。試料導入後、末端2aは緩衝溶液3の入った緩衝溶液槽4内に保持される。キャピラリー1の他の末端2bは金属管5の内部に挿入される。一般に、キャピラリー中を流れる緩衝溶液の流量は少なく、緩衝溶液だけを安定に連続的に噴霧させることは困難である場合が多い。そこで、キャピラリー1と金属管5との隙間には噴霧を補助するための噴霧補助溶液6が導入される。高圧電源7aにより、キャピラリー1の末端2aと金属管5との間に高電圧を印加すると、噴霧補助溶液6を介してキャピラリー1の他の末端2bと金属管5が電氣的に接触し、キャピラリー1の両端2a、2bに電圧が印加される。試料は電気泳動分離されながら末端2b方向へ送られる。

【0004】末端2bまで到達した試料は、噴霧補助溶

液6と混合された後、金属管5と対向する電極8aとの間に噴霧電源9から印加される電圧により静電噴霧される。噴霧により生成した液滴中には試料分子に関するイオンが含まれている。このイオンは、イオン導入細孔10a、排気系11aにより排気された差動排気部12、イオン導入細孔10bを通して、排気系11bにより高真空中に排気された高真空部13に導入される。真空中に導入されたイオンは質量分析部14で質量分離され、イオン検出器15で検出される。検出された信号は信号ライン16によりデータ処理装置17へと送られ処理される。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計では、試料のイオン化に静電噴霧イオン化法を用いていた。静電噴霧イオン化法は、溶液中にイオンとして存在する蛋白質、ペプチドなどの高極性物質を気体状のイオンとして取り出す方法である。このため、従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計では、溶液中で電荷を持たない中性物質は高感度で検出することができなかった。これらの中性物質には、各種の医薬品や神経伝達物質として知られるアミン類などが含まれる。従って、これらの電氣的に中性な試料の分析は、バイオや医学の研究上、極めて重要である。

【0006】一方、キャピラリー電気泳動法においては、緩衝溶液に界面活性剤を加えてミセルを形成させ、各試料によるミセルへの分配の差を利用して電荷を持たない中性物質を分離する、ミセル導電クロマトグラフィなども開発されている。従って、キャピラリー電気泳動・質量分析計の適応範囲を拡大するため、溶液中で電荷を持たない中性物質も高感度で分析できる装置の開発が望まれていた。

【0007】また、従来の静電噴霧法で得られるイオン強度は、近似的に次式で与えられる〔J. H. Wahl et al., Electrophoresis, 14, 448(1993)〕。

$$I(A^+) \propto V(A^+) / V(B^+)$$

ここで、 $I(A^+)$ は分析対象とするイオン(A^+)の信号強度、 $V(A^+)$ は分析対象とするイオン(A^+)の流量、 $V(B^+)$ はそれ以外の夾雑イオン(B^+)の流量を表す。従って、静電噴霧法で高感度を実現するためには、試料溶液中の夾雑イオンを除去することが重要になる。

【0008】一方、キャピラリー電気泳動法では、試料分子の壁面への吸着などを防ぐために、電気泳動用バッファ中に高濃度の塩を加える方法が良く用いられる。このようなバッファは、塩が解離して生じた夾雑イオン(Na^+ 、 Ka^+ 等)を大量に含み、上式の分母が著しく大きくなって分析対象とするイオンの信号強度が低下するため、従来の静電噴霧法を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計では使用が困難であった。

【0009】また、上述のミセル導電キャピラリークロマトグラフィでは、バッファ中にSDS(ドデシル硫酸

ナトリウム)等の界面活性剤のミセルを形成させて分析するが、これを行うためにはバッファ中に臨界値(臨界ミセル濃度)を超える濃度の界面活性剤を加える必要がある。この条件では、界面活性剤から遊離したカチオン、アニオンがバッファ中に大量に存在するため、従来の静電噴霧法ではこれら夾雑イオンの影響により試料イオンの観測が困難になる。

【0010】以上のような理由により、バッファ中の塩の影響を受けにくいキャピラリー電気泳動・質量分析計が求められている。本発明の第1の目的は、従来の静電噴霧イオン化法ではイオン化しにくい溶液中で電氣的に中性である物質を高感度で分析できるキャピラリー電気泳動・質量分析計を提供することである。また、本発明の第2の目的は、従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計において使用が困難であった電気泳動用バッファを使用可能とすることにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明においては、キャピラリーから送られて来る試料溶液を霧化し、得られた液滴を気化して得られるガス状の試料分子を化学反応によりイオン化し、この試料分子に関するイオンを質量分析部で質量分析することにより前記目的を達成する。

【0012】図1は、本発明のキャピラリー電気泳動・質量分析計の構成を示す概略図である。キャピラリー電気泳動部18で分離された試料は緩衝溶液とともに霧化部19にて噴霧される。噴霧により得られた液滴は気化部20において気化が促進される。気化部20で生成されたガス状の試料分子は化学イオン化部21において化学反応によりイオン化される。

【0013】試料分子に関するイオンは、イオン導入細孔10a、排気系11aにより排気された差動排気部12、イオン導入細孔10bを通して、排気系11bにより高真空中に排気された高真空部13に導入される。真空中に導入されたイオンは質量分析部14で質量分離され、イオン検出器15で検出される。検出信号は信号ライン16によりデータ処理装置17へ送られて処理される。化学イオン化部は作動排気部12に設けてもよい。作動排気部12は数パスカルから数百パスカルの圧力を有しており、試料分子と反応ガスとの衝突が生じるため化学反応によってイオンを生成することができる。

【0014】キャピラリー電気泳動部における分離モードとしては、キャピラリー中に自由溶媒を充填し、各々の試料の易動度の差により分離するキャピラリーゾーン電気泳動、キャピラリー中にゲルを充填し、ゲルの分子ふるい効果を利用して分離するキャピラリーゲル電気泳動、キャピラリー中に水素イオン濃度の勾配を設け、試料の等電点の違いにより分離するキャピラリー等電点電気泳動、緩衝溶液に界面活性剤を加えてミセルを形成させ、各試料によるミセルへの分配の差を利用して分離するミセル導電キャピラリークロマトグラフィなど種々の

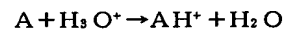
モードがあるが、本発明はそのいずれの分離モードに対しても適用することができる。試料溶液の霧化部には、静電噴霧、加熱噴霧、ガス噴霧、超音波振動子を用いる噴霧手段等、任意の霧化手段を利用することができる。また、気化部としては、加熱した金属ブロックや赤外線照射等の手段を用いることができる。

【0015】

【作用】化学イオン化部は、Aを分析対象とする試料分子とし、Bを反応ガスの分子とすると主に以下のプロトン付加反応又はプロトン脱離反応によって試料分子Aに関するイオンを生成する。



例えば大気中でコロナ放電を起こすことによってヒドロニウムイオン(H_3O^+)あるいはそのクラスターイオン($H_3O^+(H_2O)_n$)を生成し、それと試料分子Aとの以下の反応を利用して試料Aに関するイオン AH^+ を生成する。



【0016】このようにキャピラリー末端から送られて来る試料溶液を霧化し、得られたガス状の試料分子を化学反応によりイオン化するので、溶液中で電荷を持たない試料分子に関するイオンが得られる。このイオンを質量分析部にて分析することにより、キャピラリー電気泳動・質量分析計の適応範囲を拡大することができる。

【0017】また、コロナ放電を用いる本発明の化学イオン化法によると、従来の静電噴霧イオン化法で高感度に分析できた溶液中でイオンになっているイオン性物質はむしろ検出されにくくなる。この理由は、イオン性物質は静電噴霧するだけでガス状のイオンに変換されるため、イオン導入細孔の前に設けられたコロナ放電を発生させるための電界により軌道を曲げられ、イオン細孔まで到達できないためと考えられる。すなわち、本発明は、電荷をもたずに化学イオン化部まで到達した試料分子をイオン化して分析するものであり、本発明で分析できる試料分子と従来の静電噴霧イオン化法で分析できる試料分子にはいわば相補的な関係がある。従って、本発明のキャピラリー電気泳動・質量分析計は、電気泳動用バッファに塩を含有させてもその塩に由来するイオンに対しては感度が低いため、従来の静電噴霧法を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計に比べて、バッファ溶液の選択の幅を広げることができ、キャピラリー電気泳動・質量分析計の応用範囲を飛躍的に拡大することができる。

【0018】

【実施例】以下、本発明を実施例により詳細に説明する。霧化部の霧化法に静電噴霧を用い、気化部として加熱した金属ブロックを用いた例を図2に示す。内径数十マイクロメートル、外径数百マイクロメートルのフューズドシリカ製キャピラリー1の内部には緩衝溶液が満た

7

されており、このキャピラリー1の末端2aから試料溶液がキャピラリー1中に導入される。試料導入後、末端2aは緩衝溶液3の入った緩衝溶液槽4内に保持される。キャピラリー1の他の末端2bは金属管5の内部に挿入され、キャピラリー1と金属管5との隙間には噴霧を補助するための噴霧補助溶液6として水、有機溶媒あるいはそれらの混合溶液が毎分マイクロリットルの流量で導入される。高圧電源7aにより、キャピラリー1の末端2aと金属管5との間に数十kVの高電圧を印加すると、噴霧補助溶液6を介してキャピラリー1の他の末端2bと金属管5が電気的に接触し、キャピラリー1の両端2a、2bに電圧が印加される。試料は電気泳動分離されながら末端2b方向へ送られる。末端2bまで到達した試料は、噴霧補助溶液6と混合された後、数kVの噴霧電源9により金属管5と金属ブロック22に印加される高電圧により静電噴霧される。金属ブロック22はヒーターにより約300℃程度に加熱されている。噴霧により生成された液滴は、金属ブロック22の開口部23を通過する間に、熱により気化される。

【0019】直径約0.3mmのイオン導入細孔10a付近には針状電極24が設けられる。この針状電極24には高圧電源7bにより数kVの高電圧が印加され、針状電極24とイオン導入細孔10aの開口する電極8aとの間にコロナ放電が生成される。液滴の気化により得られたガス状の試料分子がコロナ放電部分に到達すると、コロナ放電により生成されたヒドロニウムイオンなどの一次イオンと化学反応を起こし、試料分子のイオン化が達成される。

【0020】キャピラリーの末端2bは、図3に示すように、気化部の中に設けても良い。また、同じく図3に示すように、溶液を金属ブロック22に向けて直接噴霧してもよい。試料溶液は金属管5と金属ブロック22との間に電源9から印加される高電圧によって静電噴霧される。金属管5と金属ブロック22との間の絶縁は絶縁管25により行う。溶液の沸点より高い温度に加熱された金属ブロック22に吹き付けられた液滴は瞬時に気化し、ガス状の試料分子が得られる。試料分子がコロナ放電部分に到達すると、コロナ放電により生成されたヒドロニウムイオンなどの一次イオンと化学反応を起こし、試料分子のイオン化が達成される。試料分子に関するイオンはイオン導入細孔10a、10b、排気系11aによって数十Paから数百Pa程度に排気された差動排気部12を介して排気系11bによって 10^{-3} Pa程度に排気された高真空中に取り込まれ、質量分析部14及びイオン検出部15によって質量分析される。試料分子のイオン化部への到達効率を高めるため、図3に示したように、金属ブロック22内部に傾斜壁を設けてその傾斜壁に向けて斜め方向から静電噴霧し、かつイオン化部に向けて窒素などのガス26を流しても良い。このガス26は予め室温以上に加熱されていることが望ましい。

8

【0021】また、図2に示した構成において、静電噴霧で大きな液滴が生成されてしまうと、加熱金属ブロック22による気化部では完全に気化できず、針状電極24によってコロナ放電が発生している化学イオン化部に液滴のまま到達する場合がある。液滴がコロナの生じている部分に到達すると、針状電極24とイオン導入細孔10aとを短絡させ、電源等を故障させる可能性がある。これを防ぐためには、図4に示すように、キャピラリー1及び金属管5の末端2bと針状電極24によりコロナ放電が発生している化学イオン化部とを遮蔽するように電極8bを配置し、その電極8bに向けて静電噴霧させても良い。この場合、液滴の気化効率を上げるため、電極8bはヒーター27aにより加熱されていることが望ましい。図4に示した構成により、ガス状の分子だけが化学イオン化部に運ばれイオン化されるため、液滴が針状電極24に付着することによる短絡が回避される。図4において、電極8bの形状は板状のものだけではなく、メッシュであっても良い。試料分子の化学イオン化部21への到達効率を上げるため、図3と同様に、化学イオン化部21に向けてガス26を流しても良い。

【0022】計測対象とする試料分子の揮発性が高く、溶液を噴霧するだけで十分な量のガス状の試料分子が得られる場合には、図1から図4に示した実施例において、特に気化部を設けなくともよい。また、気化部を設けない場合には、図2から図4に記載した針状電極を省略し、装置の構成をさらに単純にすることも可能である。そのような実施例を図5に示す。

【0023】図5は、化学イオン化を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計において、静電噴霧を行う金属管5にさらに高い電圧を印加してコロナ放電を起こさせる構成を示した図である。キャピラリー1の末端2bまで到達した試料は、噴霧補助溶液6と混合された後、噴霧電源9により金属管5と電極8aとの間に印加される高電圧により静電噴霧される。ここで、電源9により金属管5に印加する電圧をさらに高く6~10kV程度にすると、金属管5と電極8aとの間にコロナ放電が生じる。コロナ放電が生じている条件でも溶液は噴霧され続けるため、噴霧により得られたガス状の試料分子はコロナ放電により生成される一次イオンと化学反応を起こし、試料分子に関する擬似分子イオンが得られる。すなわち、図5に示した構造は図13に示した従来技術と同一であるが、電源9によりコロナ放電を起こすほどの高電圧を金属管5に印加している点が従来技術と異なる。

【0024】次に、図13に示す従来の静電噴霧イオン化を用いるキャピラリー電気泳動・質量分析計と、図2に示す本発明による大気圧化学イオン化を用いるキャピラリー電気泳動・質量分析計で得られる質量スペクトルの差について述べる。内径50 μ m、外径150 μ mのフーズドシリカキャピラリーチューブ1の一端を内径200 μ m、外径400 μ mのステンレス管5に挿入し

た。キャピラリー1の両端には電源7aによって正味10kVの電気泳動電圧を印加した。電気泳動用バッファ液には、30mMの酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルを1対1で混合したpH7.2の溶液を用いた。キャピラリー1とステンレス管5との間には、噴霧を補助するための噴霧補助液として水とメタノールの1対1混合溶液を流量 $2\mu\text{l}/\text{min}$ で導入した。静電噴霧電源9による印加電圧は約3kVとした。

【0025】図2に示す本発明の装置においては、前記条件に加えて、約300℃に加熱した金属ブロック22からなる気化部を設け、静電噴霧により得られた液滴を気化した。針状電極24には電源7bから2.5kVの電圧を印加し、イオン導入細孔10a付近にコロナ放電を発生させた。試料分子は、コロナ放電で生成されるヒドロニウムイオンなどの一次イオンとの化学反応によりイオン化される。

【0026】バッファ液のみを噴霧したとき得られるバックグラウンドの質量スペクトルを図6及び図7に示す。図の横軸はイオンの分子量 m を電荷数 z で割った値、縦軸はイオン強度を表す。図6は、図13に示す従来の装置で測定した質量スペクトル、図7は、図2に示す本発明の装置で測定した質量スペクトルである。従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計では、図6に示したように、バッファ溶液中に加えられた酢酸アンモニウムに由来するアンモニウムイオンが強く検出されている。これは、溶液中で酢酸アンモニウムが解離して得られるアンモニウムイオンが静電噴霧により気相中に取り出されたためである。有機溶媒分子はアンモニア分子に比べて極性が低いため、高極性物質やイオン性物質に有効な静電噴霧法では高感度で検出できなかった。一方、本発明によるキャピラリー電気泳動・質量分析計では、図7に示したように、アンモニウムイオンは全く検出されず、アセトニトリルやメタノールなどの有機溶媒のプロトン付加分子イオンが強く検出される。これらのプロトン付加イオンは、蒸発してガス状になった有機溶媒分子が化学イオン化部においてイオン化され、検出されたものである。

【0027】次に、各々 $5 \times 10^{-4} \text{mol/l}$ のイオン性の物質である Timepidium 及び溶液中で電荷を持たない中性の物質である Caffeine を試料として用意し、落差法によってキャピラリー1の陽極側に約3n1導入して分析を行った。図13に示す従来の装置による測定結果を図8に、図2に示す本発明による装置による測定結果を図9に示す。図8に示されるように、従来の静電噴霧法を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計によると、イオン性の物質である Timepidium が強く検出されるとともに Caffeine の検出強度が弱い。一方、本発明の化学イオン化法を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計によると Timepidium が全く検出されないにもかかわらず、Caffeine が従来法によるよりも強く検出さ

れている。化学イオン化法を用いることによりイオン性物質である Timepidium が検出されないのは、イオン性物質は静電噴霧するだけでガス状のイオンに変換されるため、イオン導入細孔の前に設けられたコロナ放電を発生させるための針状電極により形成される電界により軌道を曲げられ、イオン導入細孔10aまで到達できないためと考えられる。

【0028】図6と図7及び図8と図9を比較すると明らかなように、本発明によるキャピラリー電気泳動・質量分析計は従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計と異なるイオン種を生成して分析することができる。また、従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計では、電気泳動用バッファ中に塩を加えるとその塩の信号強度が強く現れる反面、分析対象とするイオンの信号強度は低下するため、バッファ中に高濃度の塩を添加することはできなかった。これに対して、本発明の装置によって測定された質量スペクトルにはバッファ中に加えた塩に由来するスペクトルはほとんど見られない。従って、本発明によるキャピラリー電気泳動・質量分析計には種々の塩を含んだバッファ溶液を用いることができ、バッファ溶液の選択の幅が広がる。このように、本発明によるとキャピラリー電気泳動・質量分析計の応用範囲を飛躍的に拡大することができる。

【0029】キャピラリーの内径が太い場合、電気浸透流の流速が早い場合、あるいは溶液を噴霧する金属管の外径が細いなどの理由により、キャピラリー末端から送られて来るバッファ溶液の流量が安定に静電噴霧を維持させるのに十分である場合には、図2から図5に示した噴霧補助溶液を用いなくとも良い。噴霧補助溶液を用いない実施例を図10に示す。キャピラリーの末端2b部分の外壁には導電性を有するコーティング28が施されている。コーティング28に電源9から数kVの高電圧を印加すると、キャピラリーの末端2bに送られて来る緩衝溶液はコーティング28と電気的に接触し静電噴霧される。静電噴霧により生成された液滴は、図2から図5に示した実施例と同様に、300℃程度に加熱された金属ブロック22からなる気化部に導入されて気化され、気化された試料分子は針状電極24によるコロナ放電でヒドロニウムイオン等が生成されている化学イオン化部へと導入される。

【0030】混合試料を分離する必要が無くフローインジェクション法により分析する場合でも、試料溶液の量が少ないなどの理由により低流量で試料溶液を送液する必要がある場合には、図2から図10に示した静電噴霧と大気圧化学イオン化を用いる方法は有効である。図11に、フローインジェクション分析を行う場合の構成を示す。ポンプなどから構成される送液系29から送られた試料溶液は、配管30、コネクタ31を介して金属管5に導入される。金属管5に電源9から2~10kV程度の高電圧を印加することにより試料溶液を静電噴霧さ

せる。液滴は加熱された金属ブロックからなる気化部で気化され、気化された試料分子はコロナ放電で生成されたヒドロニウムイオン等が存在する化学イオン化部にてイオン化される。試料分子に関するイオンはイオン導入細孔10a、10bを通して真空中に取り込まれ、質量分析部14で質量分析される。従って、低流量でフローインジェクション分析を行う場合でも、化学イオン化による質量分析が可能となる。

【0031】図2から図5、あるいは図10、図11に示した実施例では、溶液を霧化する手段に静電噴霧を用いているが、霧化の方法には加熱噴霧、ガス噴霧、超音波振動子を用いる方法、またはそれらを複合した方法など多くの手法が考えられる。本発明はいずれの霧化方法に対しても適用できる。また、上記の実施例では、液滴の気化の手段に加熱した金属ブロックを用いる構成を示したが、液滴の気化には赤外線を照射する方法などを用いてもよい。

【0032】図12に、霧化手段にガス噴霧を、また、気化手段に赤外線の照射を用いる実施例を示す。キャピラリーの末端2bに到達した試料は噴霧補助溶液と混合された後、噴霧用ガス32により噴霧される。噴霧により得られた液滴は、気化部へと送られる。気化部では、電源34に接続されたヒーター27bから放射される赤外線を液滴に照射し、液滴を気化させる。液滴がヒーター27bに直接当たることによりヒーターの劣化が起こる場合には、ヒーター27bを保護するためのガラス管33をヒーター27bの内側に設けてもよい。液滴の気化の効率を向上させるため、噴霧用ガス32中の水蒸気は除去されていることが望ましい。また、噴霧用ガス32は室温以上に加熱されていることが望ましい。気化部20において得られたガス状の試料分子は、針状電極24によるコロナ放電でヒドロニウムイオン等が生成されている化学イオン化部においてイオン化され、イオン導入細孔10a、10bを介して真空中の質量分析部に導入され、分析される。

【0033】

【発明の効果】本発明によれば、キャピラリー電気泳動により分離された溶液中では電荷を持たない中性試料分子をイオン化できるとともに、従来のキャピラリー電気泳動・質量分析計において使用が困難であった電気泳動用パuffaを使用することが可能となるため、キャピラリー電気泳動・質量分析計の適応範囲が拡がり、より多くの物質の分析が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるキャピラリー電気泳動・質量分析計の構成を示す概略図。

【図2】本発明の一実施例の説明図。

【図3】キャピラリー末端を気化部の中に設け、かつ金属ブロックに向けて試料溶液を直接吹き付ける実施例を示す図。

【図4】大きな液滴が飛翔し化学イオン化部に到達することを妨げるための遮蔽板を設けた実施例を示す図。

【図5】溶液を噴霧するための金属管を用いて化学イオン化のためのコロナ放電を発生させる実施例を示す図。

【図6】従来の静電噴霧イオン化を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計で得られるパuffa液の質量スペクトルを示す図。

【図7】本発明の化学イオン化を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計で得られるパuffa液の質量スペクトルを示す図。

【図8】従来の静電噴霧イオン化を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計で得られる試料のクロマトグラムを示す図。

【図9】本発明の化学イオン化を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計で得られる試料のクロマトグラムを示す図。

【図10】噴霧補助溶液を用いない実施例を示す図。

【図11】フローインジェクション分析に用いた実施例を示す図。

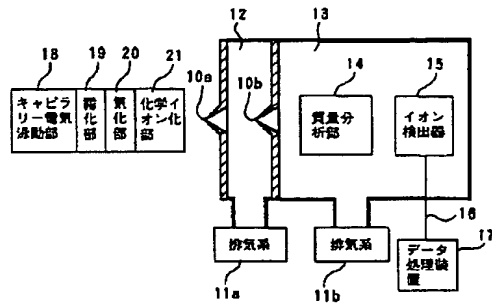
【図12】霧化部の霧化法にガス噴霧を用い、気化部の気化方法に赤外線の照射を用いる実施例を示す図。

【図13】従来の静電噴霧イオン化法を用いたキャピラリー電気泳動・質量分析計の構成を示す図。

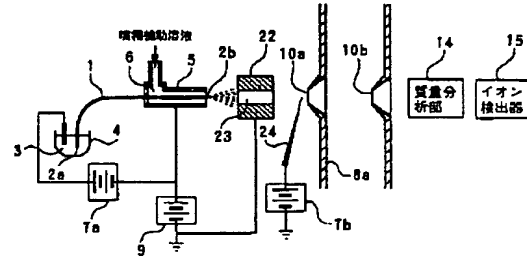
【符号の説明】

1…キャピラリー、2a、2b…末端、3…緩衝溶液、4…緩衝溶液槽、5…金属管、6…噴霧補助溶液、7a、7b…高圧電源、8a、8b…電極、9…噴霧電源、10a、10b…イオン導入細孔、11a、11b…排気系、12…差動排気部、13…高真空部、14…質量分析部、15…イオン検出器、16…信号ライン、17…データ処理装置、18…キャピラリー電気泳動部、19…霧化部、20…気化部、21…化学イオン化部、22…金属ブロック、23…開口部、24…針状電極、25…絶縁管、26…ガス、27a、27b…ヒーター、28…電気伝導性を有するコーティング、29…送液系、30…配管、31…コネクタ、32…噴霧用ガス、33…ガラス管、34…ヒーター電源

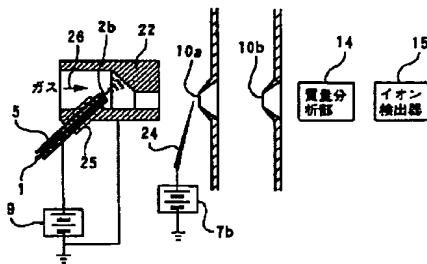
【図1】



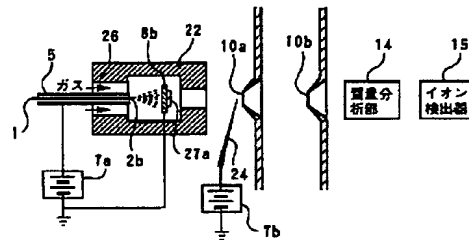
【図2】



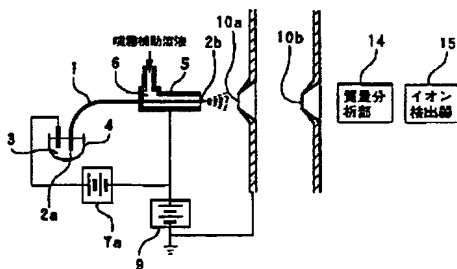
【図3】



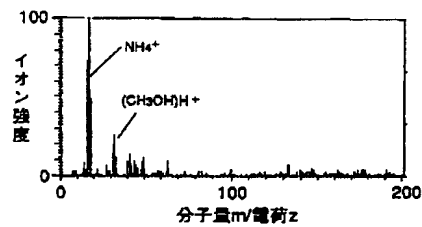
【図4】



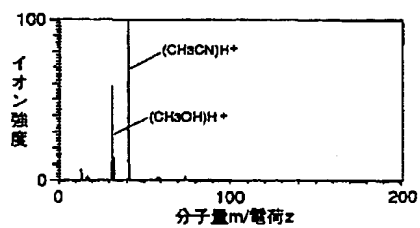
【図5】



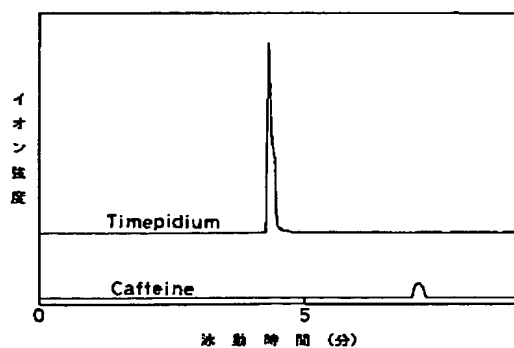
【図6】



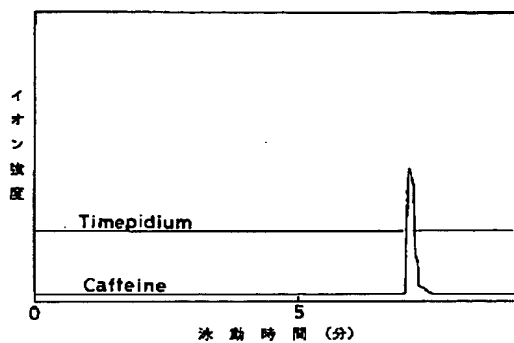
【図7】



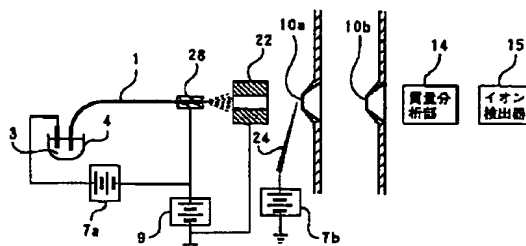
【図8】



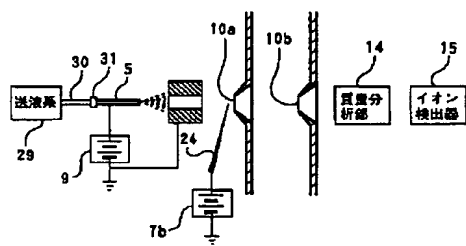
【図9】



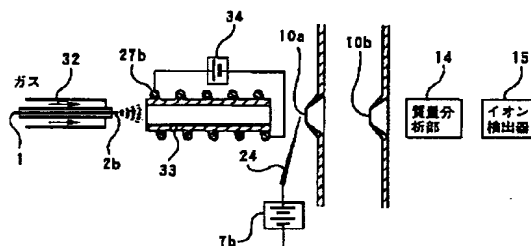
【図10】



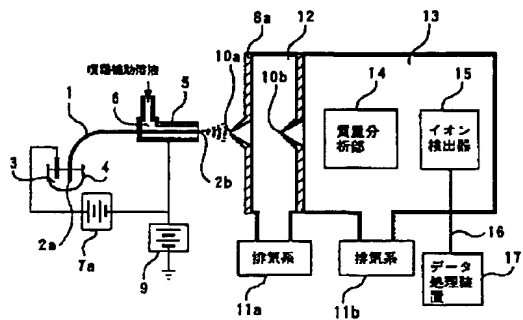
【図11】



【図12】



【図13】



フロントページの続き

(72)発明者 小泉 英明

東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目280番地
株式会社日立製作所中央研究所内